OMAGGIO dell'A.

Istituto di Clinica Medica Gen. della R. Univ. di Modena
diretto dal Prof. G. Zagari.

Le resistenze globulari ed i poteri anti-emolitici del sangue nella pratica clinica.

392

Dott. Andrea Roccavilla
aiuto.

Estratto dalla "Riforma Medica" Anno XXXI, N. 30-32

NAPOLI
TIPOGRAFIA DELLA « RIFORMA MEDICA »
1915.

Istituto di Clinica Medica Gen. della R. Univ. di Modena
diretto dal Prof. G. Zagari.

Le resistenze globulari ed i poteri anti-emolitici del sangue nella pratica clinica.

Dott. Andrea Roccavilla

aiuto.

Estratto dalla "Riforma Medica" Anno XXXI, N. 30-32

NAPOLI
TIPOGRAFIA DELLA « RIFORMA MEDICA »

1915.

Lo studio della così detta resistenza del sangue ha acquistato in questi ultimi tempi importanza clinica grandissima: sul criterio di particolari varianti patologiche di questa proprietà si sono create delle entità nosologiche nuove e bene individualizzate (itteri emolitici con fragilità globulare) e dal sussidio di questo stesso fattore si è omai pensato da taluni di trarre profitto per la diagnosi differenziale di speciali forme morbose, non che pel riconoscimento precoce di altre (cancro dello stomaco: Lang e Cohnreich).

Senonchè i metodi ordinari che insino ad ora hanno servito per la valutazione della resistenza del sangue in Clinica non potranno, a mio avviso, non sembrare insufficienti per sè stessi e ad ogni modo inadeguati all' importanza del fenomeno ricercato, qualora si ponga mente alla complessità del fenomeno stesso ed alla diversità dei fattori che sono in grado di modificarlo. I ricercatori infatti che hanno eseguito studi di resistenza, si sono quasi tutti limitati ad un' indagine pura e semplice della sensibilità globulare, non curandosi di precisare contemporaneamente fino a qual punto si estendessero e di quale efficacia fossero dotate le

eventuali capacità antiemolitiche possedute dal plasma a tutela dei propri globuli rossi. Con ciò viene quasi a considerarsi separata la biologia del globulo rosso da quella del mestruo che lo contiene e ad attribuirsi, come ho già fatto rilevare in altro mio lavoro (cfr. *La Clinica medica italiana,* 1915), ad un componente solo del sangue la facoltà di dominare l' andamento di un processo, che dipende e dall' uno e dall'altro dei due costituenti della massa sanguigna: dai globuli cioè e dal plasma. Infatti la dissoluzione del globulo rosso e la fuoruscita dell' Hb dallo stroma, che dell'avvenuto disfacimento globulare fornisce alle nostre ricerche *in vitro* l' indice più sicuro, costituiscono nell'organismo l' esito di una lotta che si è impegnata, non solamente fra la sostanza emolizzante ed il globulo rosso, ma tra la sostanza stessa da un lato, l'eritrocita che si difende ed il plasma rispettivo che lo protegge dall'altro lato. Ed il genere di lotta combattuta è ben differente nelle diverse circostanze: esso varia, così a seconda delle armi impiegate dall' emolitico per distruggere l' eritrocita, come di conseguenza a seconda dei mezzi di difesa opposti dal plasma (poteri antiemolitici) e dall'eritrocita (resistenze). Vi sono infatti, come vedremo, certi corpi emolizzanti e certe cause di dissoluzione globulare che svolgono la loro azione deleteria interessando gli uni componenti dell' eritrocita e del plasma e certi corpi come pure certi fattori, che, con un meccanismo del tutto differente, ne intaccano e distruggono altri elementi integrali.

Ed il sangue, in ognuna delle sue parti costitutive (plasma e globuli), serba in sè stesso delle qualità biologiche, biofisiche e biochimiche di difesa verso gli agenti capaci di distruggerlo, le quali sono diverse e numerose, così teoricamente come nella realtà dei fatti. Anzichè quindi di una resistenza del globulo rosso, quale viene intesa oggidì in linea generale, sarebbe forse più adatto parlare di molteplici resistenze dei

globuli rossi e di molteplici poteri antiemolitici del plasma.

Invece le osservazioni cliniche, come del resto anche quelle sperimentali in materia di resistenza globulare, si sono ristrette per lo più esclusivamente alla valutazione del grado di sensibilità degli eritrociti di fronte alle soluzioni ipotoniche-clorosodiche calcolate mediante numerose e differenti modificazioni dell' originario metodo di Hamburger. L' insufficienza del metodo ha però incominciato ad essere riconosciuta già da più di un autore. Si è venuto a comprendere, che, se la resistenza fisica è quella che meglio corrisponde ai bisogni della pratica d' uso corrente, essa non è però la più confacente alle esigenze di una ricerca delicata di sensibilità globulare. Tale insufficienza dipende sovratutto dal fatto, che le oscillazioni della resistenza fisica non coincidono con quelle cui può andare del pari incontro la resistenza saggiata con altri metodi e da ciò, che il modo con cui si compie l'emolisi diosmotico-fisica è ben differente da quello che non comporti il meccanismo d'azione degli altri corpi emolizzanti, di quelli più specialmente che esercitano azione nociva nell'organismo animale. Si è cominciato quindi a sentire la necessità di ricercare la resistenza appunto di fronte a sostanze fornite di analogie più intime coi veleni organici e qualche indagine si è realmente fatta con questo sistema di ricerca. Ma si tratta per lo più di tentativi, i quali hanno per obietto lo studio esclusivo della resistenza dei globuli rossi verso l' uno o verso l' altro corpo emolitico e non tengono menomamente conto dell' influenza che può essere svolta dal plasma. Uno studio sistematico di emolisi e di antiemolisi indagate contemporaneamente nello stesso individuo normale od ammalato e di fronte, non ad uno solo, ma a più corpi emolitici, per rispetto almeno a quelli che rappresentano in modo tipico i vari meccanismi fondamentali di emolisi, manca in via assoluta. La presente nota non vuole essere che un saggio inteso

a colmare questa lacuna e non mira ad altro, se non a provare di quale utilità nella pratica clinica sia un tale studio ematologico comparato.

A meglio chiarire i criteri che mi hanno guidato nelle presenti ricerche, sarebbe qui necessaria una lunga esposizione degli studî più recenti intorno ai fenomeni assai complessi dell' emolisi e dell' antiemolisi, come pure delle teorie meglio accreditate che si sono emesse per interpretarli. Per ragioni di brevità mi dispenso dal farla, tanto più che una rapida sintesi dei portati scientifici nuovi in argomento, si trova nei lavori di Krasny, di Karsner ed in tre mie precedenti pubblicazioni (1914-1915).

Ricordo solamente, che, tra le varie forme dell'emolisi, se ne riconosce anzitutto una d' ordine fisico, o, più esattamente, fisico-chimico, il prototipo della quale è rappresentato dall' emolisi per ipotonia da soluzioni saline clorosodiche. Per questa forma di dissoluzione globulare, la sensibilità e la resisteza dell' eritrocita sono funzione, o del grado di consistenza del vincolo di adsorbimento che lega l'Hb agli altri colloidi dello stroma globulare (Fischer), od al quantitativo assoluto di HPO_4 che è contenuto nello stroma stesso (Mayer e Port). A tutela del globulo rosso e di fronte alla capacità distruttiva di un fattore emolitico d' ordine fisico, il plasma oppone un'azione antiemolitica, ma questa è di grado molto leggero e non subisce in generale che delle oscillazioni assai poco estese.

Si distinguono poi differenti tipi di emolisi d'ordine chimico, le quali diversificano le une dalle altre, a seconda del colloide globulare che viene distrutto, o, più semplicemente, del colloide, che, scindendosi dagli altri elementi dello stroma, provoca lo sfacelo del complesso lipoido-proteico di cui risulta il globulo rosso. E poichè, com'è noto, quattro sono i colloidi di cui consta l' emazia (emoglobina, colestearina, lecitina, albumina), così si avranno quattro differenti tipi di emolisi

per via chimica. Questi però, fino a che una più netta e precisa distinzione fra emolisi per colestearinolisi e per lecitinolisi non sia stata istituita, si riducono, per ora, solamente a tre: emolisi per cromolisi, emolisi per lipolisi, emolisi per proteolisi. Di tanto è scarso e deficiente il potere antiemolitico del plasma di fronte ad una emolisi di natura fisica, d'altrettanto diventa efficace ed importante lo stesso potere, allorchè questo si esercita nell' ambito d' una dissoluzione globulare d' ordine chimico e sopratutto per lipo- e per proteolisi.

Le ragioni per le quali è indicato lo studio della resistenza fisica sono le stesse per cui Hamburger consigliò il metodo rispettivo per tutte le eventualità cliniche: la sua maggiore sensibilità e, se vogliamo, anche la stessa sua grande semplicità; quelle a cui si raccomanda l' indagine della resistenza e dei fattori plasmatici difensivi di fronte a veleni lipo- e proteolitici, si riassumono sopratutto in ciò, che le varie sostanze le quali nell' organismo minacciano l' integrità globulare, esplicano un' azione che tende a distruggere appunto questo o quel colloide del globulo rosso. Varie sostanze si possono impiegare per lo studio di questi ultimi processi di emolisi; per le presenti ricerche ho scelto quelle, che, per essere le più tipiche, hanno già avuto largo uso nelle indagini sperimentali del genere: la saponina ed i sieri immuni.

L' azione della saponina si esplica mediante un processo di lipolisi, perchè la saponina ed i glicosidi del suo gruppo dimostrano una squisita affinità chimica per la colestearina del globulo e per quella del plasma. In verità, la saponina, allorchè non è interamente fissata e distrutta dalla colestearina libera del plasma, attacca la lecitina globulare che trasforma in un composto speciale il *saponinlecitide*, ma la capacità dissolutrice di questa saponina non fissata dal plasma, è ancora potentemente inibita, alla sua volta, dalla colestearina contenuta nello stesso stroma. Di guisa che si può ammettere, che l'integrità globulare minac-

ciata dalla saponina è difesa da due ostacoli, che la saponina medesima deve superare prima di giungere ad intaccare la lecitina dello stroma: la colestearina libera del plasma e la colestearina del globulo. Tanto maggiore è la quantità di glicoside che viene fissata da queste due fonti di colestearina, e tanto minore è la quantità residua che può combinarsene con la lecitina e tanto più piccolo diventa quindi il grado di emolisi che può conseguirne.

L' azione dei sieri immuni si ammette oggidì che sia deferita ad un processo di proteolisi operato dal complemento in presenza dell'ambocettore, il quale eserciterebbe una semplice azione di catalisi. E ad un processo pure di proteolisi sarebbe affidato il potere antiemolitico del plasma, il quale lo deriverebbe dal fatto di possedere certi elementi capaci di distruggere il corpo proteico dell' alessina.

Per questo mio saggio ho quindi usato come corpi emolizzanti verso cui indagare la sensibilità globulare ed il potere antiemolitico del plasma:

1° le soluzioni clorosodiche ipotoniche;
2° la saponina;
3° un siero immune antiumano.

La letteratura è estesissima per ciò che riguarda il grado di resistenza opposto dai globuli rossi in svariate condizioni morbose alle soluzioni ipotoniche-clorosodiche. Data la natura delle presenti ricerche e lo scopo cui mirano, non m' indugierò in una rivista bibliografica molto particolareggiata a questo riguardo, tanto più che essa è diffusamente riferita in alcune recenti monografie (Cohnreich, Sandaya). Per attenermi semplicemente alle nozioni più sicure, ricorderò che, in generale, la resistenza fisica diosmotica fu trovata superiore alla media normale nel corso degli itteri da ostruzione (Chanel, Vaquez, Ribierre, Limbek, Strauss, Strasser, Neumann, Sandaya, Viola e Tarugi, Biffi, Paoloni

ecc.) nelle poliglobulie, nel corso di molte malattie ad andamento cronico (tubercolosi) od altamente febbrile (Janowsky, Limbek, Pignatti-Morano, Jakuschewsky, Castellino, Ribierre, Paris Salomon, Viola, Lang, v. Liebermann, Teissier, Bénard, Strauss. Sandaya), nel cancro e specialmente se ne sia interessato il tubo gastro-enterico (Chanel, Janowsky, Donati, Lang, Limbek, Strauss, Geisböck, Cohnreich). Uno stato di speciale fragilità globulare costituisce poi un elemento patognomonico fondamentale delle anemie e degli itteri emolitici (Widal, Chauffard, Philibert, Vaquez-Giroux-Aubertin, Aschenheim, Fiessinger, Blum, Parkes, Weber, Dudgeon, Lommel, Jona, Geisböck). In merito alla resistenza diosmotica dei globuli rossi nel corso delle altre malattie del sangue, merita osservare che tra i numerosi ricercatori i quali se ne sono occupati (Jakuschewsky, Strauss, Strasser, Neumann, Limbek, Peyton-Rous, Ehni-Alexejeff, Sandaya, Cohnreich), manca un accordo che permetta di giungere a sicure argomentazioni. Tale incertezza sussiste anche pel caso delle anemie perniciose, nel corso delle quali alcuni hanno riscontrato un aumento ed altri invece una considerevole diminuzione della resistenza clorosodica.

A riguardo del potere antiemolitico opposto dal plasma all'azione diosmotica delle soluzioni ipotoniche clorosodiche, le nostre nozioni si riducono ai risultati non ulteriormente confermati di Vaquez e di Ribierre in merito ad un aumento di detto potere, che di solito esisterebbe nel corso degli itteri colurici e biliari.

Il grado di resistenza globulare saggiato colla saponina ha cominciato ad essere usato nella pratica clinica da più di un autore ed a prestarsi quale ottimo criterio di giudizio relativamente al grado ed alla na-

tura di una determinata emopatia, così per ricerche sistematiche, come per la illustrazione di casi isolati (Neil, Sandaya, Heuberger, May). Heuberger e Sandaya affermano che la resistenza dei globuli rossi verso la saponina è costante e difficilmente subisce variazioni sensibili. Essi la riscontrarono diminuita solo in un caso di anemia perniciosa ed in uno di ittero emolitico ed aumentata solamente in un'osservazione di iperglobulia. Neil e May ammettono invece che esistano realmente delle apprezzabili oscillazioni di questa resistenza e che esse variino a seconda delle diverse condizioni fisio-patologiche in cui si trova il paziente. Uno stato di ipocolestearinemia (tubercolosi, tifo) si accompagnerebbe di regola a diminuzione della resistenza saponinica. Una condizione di ipercolestearinemia (itteri e nefriti) comporterebbe di solito un grado di sensibilità globulare verso la saponina che è normale e che diventa manifestamente inferiore alla norma per le sole forme di ittero colurico d' origine epatica (ittero da ostruzione).

Tale ipersensibilità globulare propria agli stati itterici d'origine epatica fornirebbe anzi un elemento patognomonico differenziale nella diagnosi di ittero colurico ed acolurico (May), in quanto che, in questo ultimo, come in molti casi di nefrite, la resistenza globulare verso la saponina sarebbe normale. Tra le affezioni che non comportano alcuna modificazione del tasso di lipoidoemia, May non avrebbe trovato in quattro casi di perniciosa, in cinque casi di cancro con grave cachessia, in due gravi nefriti con sindrome anemico-perniciosa, quelle sensibili modificazioni della resistenza globulare verso la saponina, che Mc. Neil aveva riscontrato nelle proprie ricerche cliniche e cioè: da un lato, ipersensibilità globulare nel corso delle anemie e specialmente di quelle a tipo pernicioso, come pure nei gravi stati febbrili; e dall' altro, aumento di resistenza nel diabete zuccherino e nelle ipertermie di modico grado.

Il potere inibitore del plasma nelle varie condizioni morbose di fronte all' emolisi da saponina non fu ricercato che da Herz e Landsteiner, i quali ne riscontrarono una modificazione e precisamente in aumento, solo in casi di ittero da ostruzione.

Lo stesso potere antiemolitico del plasma verso l'azione dissolvente di un immunsiero, non venne, ch'io mi sappia, insino ad ora studiato clinicamente e Peyton Rous fu l' unico che abbia indagato il comportamento della resistenza dei globuli rossi dell' uomo in varie circostanze normali e patologiche di fronte agli stessi sieri immuni. Veramente già due altri (Bielonowsky e Chkliawitch) avevano fatto qualche ricerca del genere, ma si tratta di tentativi isolati, praticati nel corso di indagini rivolte ad altro scopo e che non rivestono quindi l'importanza di studi sistematici. Il Rous trovò, come variazione più frequente, una diminuzione della resistenza minima, che egli potè osservare in due malati di leucemia, in due casi su tre di anemia perniciosa e vide mancare in tutte le forme di anemia secondaria, anche se il tasso emoglobinico e la percentuale globulare fossero d' un grado veramente minimo. E' degno di nota che tale diminuzione non comparve neanche nel sangue di un individuo affetto da grave intossicazione per ossido di carbonio. Un aumento di resistenza alle emolisine, fu riscontrato da Rous in due casi su tre di emofilia, in uno di nefrite parenchimatosa cronica, in uno di ittero emolitico congenito tipo Minkowski-Chauffard. Nel corso degli itteri epatici (itteri da ostruzione ed itteri da cirrosi ipertrofica), benchè da contemporanee ricerche comparative gli risultasse aumentata la resistenza clorosodica, non potè il Rous stabilire un simultaneo aumento della resistenza emolisinica. La resistenza massima nei suoi nove casi di colemia si mantenne sempre normale, la resistenza minima in tre di essi subì invece una modica, ma sensibile diminuzione.

Tutte queste ricerche hanno positivamente dimostrato che un parallelo tra i diversi tipi di resistenza globulare e fra i vari poteri di inibizione plasmatica, non sussiste in veruna maniera, ed hanno posta, ma non risolta, la questione importantissima, se esistano dei tipi di malattia del sangue, i quali si distinguono dalle altre emopatie per particolari anormalità morbose nella composizione chimica e nello stato lipoideo del sangue (eritrociti e plasma). Un accenno a questo proposito non esiste che nel lavoro di May relativamente ai soli eritrociti. Questo autore è il primo infatti che discuta, se una data emopatia sia dovuta o meno ad una lesione dello stato biofisico o biochimico dei colloidi globulari.

La questione venne però da diversi ricercatori e per altra via coltivata mediante indagini chimiche, intese, in particolar modo, a valutare quantitativamente la colestearina serica e globulare in contingenze morbose svariate. Ma il metodo chimico, ottimo sotto certi punti di vista, è per molti altri manchevole. Non è solamente infatti la quantità assoluta di questo o di quel colloide serico o globulare che interessa agli effetti immediati della maggiore o minore sensibilità di un sangue qualsiasi verso gli agenti emolizzanti, ma anche e forse più hanno valore il grado di affinità biologica, che tra di loro conservano reciprocamente i vari colloidi plasmatici ed eritrocitari e la quantità relativa dei lipoidi e dei proteici che concorrono alla composizione del sangue in tutti i suoi elementi. Nè terrò quivi parola — anche per ragioni di brevità — delle molteplici e non tutte recenti ricerche chimiche in proposito.

Sarò brevissimo per ciò che riguarda i procedimenti tecnici a cui mi sono attenuto, anche perchè essi furono in gran parte esposti in uno dei miei precedenti lavori sull' emolisi (Cfr. *La Clinica Medica Italiana,* vol. LIV, 1915).

Nelle indagini della resistenza globulare verso le soluzioni clorosodiche ho usato il metodo di Ham-

burger-Viola, calcolando le tre resistenze: massima, media e minima.

La ricerca della resistenza dei globuli rossi verso la saponina veniva praticata valutando la resistenza minima e la resistenza massima o microscopica opposta da una quantità costante (cmc. 0,1) di sospensione globulare in soluzione clorosodica (0,8 %), di fronte a soluzioni esattamente titolate di saponina e di concentrazione progressivamente crescente da gr. 0,000,005- a gr.0,001.La lettura dei risultati veniva eseguita in due 0,001. La lettura dei risultati veniva eseguita in due tempi: 15 minuti dopo l'aggiunta dei globuli rossi ed in capo a sei ore. Per l' allestimento della sospensione globulare usavo certe precauzioni di cui sarà detto tra breve.

Per valutare la resistenza degli eritrociti verso un siero immune, usavo un procedimento del tutto analogo a quello che di solito si adopera, allorchè si vuole titolare il potere emolitico di un dato siero emolizzante, procedimento troppo noto perchè debba parlarne. Mi basti accennare che, allo scopo di poter calcolare contemporaneamente la capacità antiemolitica del plasma, usavo, a titolo di complemento, un siero fresco di cavia in dose di cmc. 0,1 preferendo quest' ultimo al siero fresco dello stesso individuo quale era adoperato da Rous, e che, come ambocettore, mi valevo del siero di sangue inattivato di conigli preventivamente iniettati per via endoperitoneale, sei od otto volte e a distanza di cinque a sette giorni l' una iniezione dall'altra, con globuli rossi lavati di uomo normale.

I poteri antiemolitici del plasma erano stabiliti aggiungendo rispettivamente alle diverse soluzioni clorosodiche, saponiniche, immuno-alessiche e 15 minuti avanti dell'addizione dei globuli rossi, una quantità costante per tutte le ricerche di plasma fresco (cm. 0,1), non inattivato del rispettivo paziente. Il numero dei tubi da emolisi, per rispetto ai quali nella scala delle provette, si spostava in capo a sei ore la resistenza massima,

mi costituiva un *indice di antiemolisi,* con cui valutare il potere difensivo del plasma stesso.

Il sangue prelevato dalla vena alla piega del gomito e raccolto in provetta sterile da centrifuga, veniva poi defibrinato mediante scuotimento con perline. La centrifugazione mi separava quindi, da un lato i globuli rossi che potevo sottoporre ulteriormente a triplice lavaggio in soluzione fisiologica sterile, dall'altro il liquido che sospendeva gli eritrociti stessi. A puro titolo di comodità, ho chiamato « plasma » questo liquido, per quanto a rigor di termini, esso non potesse dirsi veramente tale, privo com' era dei colloidi che avevano concorso alla formazione della fibrina. Ed ho convenuto di designarlo così, perchè esso non corrisponde al siero, essendo stato sempre immune da ogni rapporto osmotico di qualche durata con la fibrina e con gli eritrociti da questa impigliati a formare il coagulo e perchè, d' altra parte, esso manca finora di una denominazione propria.

Un' innovazione, a mio modesto avviso, non priva di qualche pregio e che forse può spiegare certe divergenze che esistono fra i miei risultati e quelli degli studiosi che mi hanno preceduto, ho stimato necessario di apportare al metodo di preparazione delle sospensioni globulari. E' stato dimostrato che la dissoluzione delle emazie per sostanze ad azione lipo-proteolitica, si esplica mediante un meccanismo intimo di natura chimica e biochimica. Come tale, essa è subordinata alle medesime leggi, che regolano i fenomeni di desintegrazione e di combinazione chimica da un lato, quelli dei processi chimico-fisici dell'adsorbimento dall'altro: leggi che sono d'ordine eminentemente quantitativo. Una data quantità di saponina o di alessina producono— *in vitro* — un grado di emolisi, il quale è proporzionato, entro a certi limiti, al numero di globuli rossi che è presente nell' unità di volume. Ciò deriva, come logica conseguenza, dal fatto, che una data quantità di glicoside è in grado di distruggere solo quel numero di glo-

buli rossi, la cui lecitina complessiva può — a malgrado della coesistente colesterina — saturare la dose di saponina impiegata. Ed a me stesso è avvenuto più volte di dover constatare, quale influenza notevole possa esercitare sul valore calcolato di resistenza, il numero maggiore o minore di globuli rossi, che sono contenuti nell' unità di volume di un dato sangue o di una data sospensione globulare.

D' altra parte la resistenza di una determinata specie di globuli deve variare notevolmente, anche da un punto di vista chimico, a seconda del titolo di concentrazione relativa della soluzione salina in cui il globulo rosso è immerso e che direttamente l'avvolge. L'adozione di una soluzione clorosodica a titolo unico per tutte le prove e per il sangue di tutti i malati, è utile in quanto che pareggia, per le singole indagini, le condizioni di ricerca, ma è d'altrettanto dannosa pel fatto, che può modificare in modo e misura differenti lo stato fisico-chimico dei globuli, a seconda della resistenza che essi realmente posseggono.

Ad ovviare al duplice inconveniente, in un gran numero di ricerche e per i casi più importanti, sono ricorso ai seguenti espedienti:

1. Di usare sospensioni globulari, le quali, per tutte le prove e per i varî malati, contenessero all' incirca il medesimo numero di eritrociti nell' unità di volume. A tal uopo, dopo separazione del plasma e successivo triplice lavaggio, cercavo di portare, mediante aggiunta di una maggiore o minore quantità di soluzione clorosodica, la massa globulare ad un grado di concentrazione media, pari a circa 3.000.000 di globuli rossi per mmc. Questo tasso medio non è difficile ad essere raggiunto, sia pel caso di un'oligocitemia, sia per quello di una iperglobulia, mediante il controllo di numerazioni globulari comparative fatte al Thoma-Zeiss. Da questa prima sospensione, che era poi quella che veniva impiegata, tal quale, per la determinazione della resistenza clorosodica, preparavo poi in

secondo tempo le ulteriori diluizioni necessarie per le prove con la saponina e coi sieri immuni e cioè rispettivamente diluizioni all' 1:3 ed all' 1:20.

2. Di sospendere i globuli rossi e le sostanze emolizzanti (sieri immuni e saponina), non già nella soluzione clorosodica abituale all'otto per mille, ma in un' altra, il cui titolo di concentrazione in NaCl corrispondeva a quello segnato dalla resistenza minima calcolata un paio d'ore prima della ricerca col metodo di Hamburger-Viola. Con siffatta precauzione ero certo di avere a mia disposizione dei globuli rossi sospesi in una soluzione isotonica o quasi. Questi accorgimenti tecnici, per quanto assai semplici, sono però tali, mi pare, da rendere il procedimento seguito e che direi «*metodo delle sospensioni globulari isotoniche ed isovolumetriche*», assai adatto alle esigenze anche delle più delicate ricerche con emolitici di natura proteo-lipolitica.

Le indagini presenti sono state eseguite sopra 62 infermi della Clinica, che sottoposi ad esame riunendoli in gruppi di 5 o 6 per volta. Ciascun gruppo comprendeva un individuo degente per forme morbose leggere e non implicanti modificazioni della crasi sanguigna (sciatica, gastrite semplice ecc.) e quattro o cinque altri individui affetti da svariate malattie. Tale sistema, oltre che rendere meno frequente una pratica, che, per sè stessa, riesce piuttosto laboriosa, in quanto che tutte le soluzioni emolizzanti usate debbono venire preparate di volta in volta, mi metteva anche in condizioni di potere eseguire le ricerche in modo da contrapporre i risultati raccolti su persone malate con quelli ricercati su individui controlli, cioè normali dal punto di vista dell'obbietto delle presenti ricerche.

TABELLA 1.—*Individui controllo; forme infettive od interessanti il sistema cardio-vascolare*

Num. d'ordine	DIAGNOSI CLINICA	DATI EMATOLOGICI			RESISTENZE GLOBULARI							Poteri antiemolitici			OSSERVAZIONI
					Clorosodiche			Saponina		Emolisina					
		Hb.	Globuli rossi	Valor glob.	Rs	RD	RN	Rs	RN	Rs	RN	Indice antiosm.	Indice antisap.	Indice antiemolis.	
1	Sciatica	80	4.500.000	0.88	0.26	0.34	0.44	0.150	0.075	1:75	1:125	1	4	2	
2	Colica ureterica	70	4.000.000	0.87	0.30	0.36	0.48	0.125	0.100	1:75	1:125	1	5	—	
3	Gastrite ac. legg.	78	4.750.000	0.82	0.26	0.38	0.46	0.175	0.075	1:90	1:110	1	4	3	
4	Ernia lomb.	80	4.800.000	0.83	0.28	0.36	0.48	0.150	0.075	1:80	1:125	1	4	4	
5	Tifo grave	45	2.750.000	0.81	0.32	0.36	0.48	0.100	0.025	1:60	1:90	1	8	—	
6	Tifo grave	35	3.225.000	0.55	0.28	0.30	0.36	0.075	0.012	1:125	1:175	—	7	—	
7	Tifo non grave	60	3.200.000	0.90	0 28	0.36	0.44	0.100	0.050	1:75	1:125	1	7	3	
8	Polmonite	65	3.800 000	0.83	0.30	0.36	0.48	0.150	0.100	1:85	1:110	1	5	—	
9	Tubercolosi polmonare	50	3.000.000	0.83	0.28	0.38	0.52	0.100	0.050	1:90	1:125	1	4	—	
10	Peritonite tubercolare	30	2.800.000	0.52	0.24	0.34	0.52	0.175	0.075	1:70	1:125	1	3	5	
11	Poliorromenite	75	4.650.000	0.79	0.16	0.32	0.46	0.175	0.075	1:60	1:75	1	5	3	
12	Tubercolosi cutanea	65	4.000.000	0.81	0.26	0.34	0.48	0.150	0.050	1:75	1:90	1	5	—	
13	Sifilide secondaria	80	5.000.000	0.80	0.30	0.38	0.52	0.200	0 075	1:60	1:100	1	4	3	
14	Tabe d. in sifilitico	75	4.500.000	0.83	0.32	0.40	0.48	0.100	0.050	1:95	1:125	1	7	—	
15	Aneurisma aortico	85	5.000.000	0.85	0.28	0.36	0.46	0.125	0.100	1:85	1:110	1	5	—	Wass. pos.
16	Ateroma c. e p.	60	4.000.000	0.75	0.20	0.38	0.42	0.125	0.075	1:80	1:90	1	4	—	
17	Miocardite cronica	40	3.100.000	0.63	0.26	0.34	0.46	0.125	0.075	1:100	1:125	1	5	3	
18	Asystolia grave	60	4.000.000	0.60	0.30	0.38	0.46	0.125	0.075	1:75	1:90	1	5	—	Anasarca
19	Asystolia grave	50	3.750.000	0.66	0.28	0.38	0.48	0.125	0.050	1:80	1:100	1	5	—	
20	Insufficienza aortica	65	4.100.000	0.79	0.30	0.38	0.48	0.125	0.075	1:90	1:110	1	4	—	
21	Stenosi cong. polm.	85	5.200.000	0.80	0.24	0.34	0.46	0.150	0.100	1:75	1:100	1	5	3	
22	Piletromboflebite	30	3.000.000	0.50	0.24	0.36	0.46	0.100	0.050	1:125	1:150	1[2	6	—	

Dall'esame comparativo dei dati riferiti nelle tabelle mi pare si possano dedurre i seguenti fatti:

A) *Resistenza fisico-diosmotica verso le soluzioni clorosodiche e rispettivi poteri di difesa opposti dal plasma.*

La resistenza dei globuli rossi lavati e deplasmatizzati nell' uomo normale mi è risultata pari ai seguenti valori:

Rs 0,26-0,28; Rd 0,34-0,36; Rn 0,44-,046 (1).

Tenuto conto delle differenze relative al fatto di avere usato globuli rossi lavati, anzichè sangue totale, queste cifre coincidono con quelle che comunemente si assegnano al sangue umano in condizioni fisiologiche e cioè:

Rs 0,32; Rd 0,38; Rn 0,48.

Solo per la Rs io avrei notato, con una certa frequenza, dei valori un po' meno elevati di quelli testè accennati. Debbo dire però, che, come limite di Rs, consideravo quello che era segnato dalla soluzione clorosodica più concentrata, nel sedimento della quale il microscopio ravvisava proprio le ultime emazie ben conservate.

Nell' uomo in condizioni patologiche un leggerissimo aumento di resistenza esisteva in un caso di anemia secondaria semplice, dovuto a ripetute emorragie intestinali; un aumento di modico grado osservai in un caso di tifo (sui tre studiati), di notevole gravità e con diminuzione della percentuale eritrocitaria ed emoglobinica e pure in un caso di nefrite parenchimatosa cronica (sui tre sottoposti alla prova), anch' esso contrassegnato, oltre che da albuminuria cospicua, anche da manifesta deficienza di eritrociti e di emoglobina. Un' iposensibilità globulare molto elevata mi fu dato di riscontrare costantemente in tutti i cinque casi di ittero epatogeno da me ricercati ed in sei casi di

(1) Rs = resistenza massima; Rd = resistenza media; Rn = resistenza minima.

cancro sui nove che ho sottoposto ad indagine. Di queste nove osservazioni di carcinoma, sette erano costituite da epitelioma gastrico. L'aumento massimo della resistenza clorosodica è comparso quindi, tanto in casi in cui il numero di globuli rossi e la percentuale emoglobinica erano superiori alla media abituale, quanto in casi in cui coesisteva, più o meno manifesto, uno stato di ipocito- e di ipocromoemia.

Le oscillazioni relative a questi aumenti di resistenza fisica riguardavano quasi sempre contemporaneamente i tre termini Rn, Rd, Rs, più di rado e senza alcuna regola, o l' una o l' altra.

Una diminuzione assai manifesta delle varie resistenze riuscii a stabilire nei due casi di leucemia, nei due casi di diabete, in una delle tre osservazioni di nefrite (nella terza delle quali la resistenza si presentò normale), nel paziente di cachessia tireopriva, in un pneumonitico, nell' ammalata di sifilide secondaria ed in particolar modo nella forma di grave anemia secondaria di origine imprecisata ed a tipo pernicioso (N. 55). Nei due casi di anchilostoma ho potuto constatare una leggera diminuzione solo della resistenza minima in confronto della massima, la quale invece dette prova di propendere verso un sensibile aumento.

La resistenza media e la resistenza minima si mantennero inferiori alla norma nel caso di cloroanemia ed in tutte tre le osservazioni di anemia perniciosa. In queste ultime la resistenza massima verso le soluzioni clorosodiche si è dimostrata, nel corso di ripetuti esami, rispettivamente inferiore alla norma (Caso N. 58: poichilocitosi grave, microcitemia, macroblasti estremamente rari); pari all' incirca alla media fisiologica (Caso N. 59: poichilocitosi ed anisocitosi di modico grado, poche forme macroblastiche); di molto superiore alla resistenza massima normale (Caso N. 60: poichilocitosi relativamente scarsa, forte anisocitosi per eccedenza di macrociti, ricchezza di macroblasti). E' particolarmente interessante il

considerevole aumento della resistenza massima, o microscopica, rilevato nell' osservazione terza di anemia perniciosa, malgrado le altre due resistenze clorosodiche, la media e la minima fossero sensibilmente diminuite, in quanto che in essa esistevano in buon numero le forme globulari macrocitarie e macroblastiche caratteristiche, se non patognomoniche, del morbo di Ehrlich-Biermer. Non appare illogico pensare invero, che il fatto apparentemente così paradossale del coesistere in un medesimo caso di un elevato aumento della resistenza massima e di una diminuzione del pari assai manifesta delle resistenza media e della minima, dipenda appunto dalla presenza di queste forme eritrocitarie ed eritroblastiche ipercromiche ed iperplastiche.

L' indice antiemolitico (indice antiosmotico) ha dimostrato assai raramente di subire modificazioni di qualche entità e queste ne riguardavano esclusivamente una diminuzione. L' indice antiosmotico infatti è sceso appena di un mezzo grado nelle forme idremiche più gravi della nefrite ed in casi di profonde anemie con idremia relativa: a questo riguardo merita di accennare alla diminuzione, che, di detto indice, ho potuto avvertire nei tre casi di anemia a tipo pernicioso ed in uno dei due pazienti di anemia da anchilostoma.

Le attuali ricerche portano un' ulteriore conferma alle non recenti conoscenze relative ad un' iposensibilità globulare esistente nel corso degli itteri per colemia epatogena ed in quello del carcinoma, iposensibilità che, in quest' ultima malattia, risulta essere tanto più notevole, per quanto più profondo è il depauperamento organico subito dal paziente. Esse sembrano dar ragione infine a quegli osservatori, i quali, per le anemie in generale, per quelle primarie in particolare e specialmente per le perniciose, hanno riscontrato una diminuzione della resistenza globulare. Nè mi sembra ulteriormente necessario insistere sull' importanza di

queste constatazioni, intese come utile criterio col quale risalire alla diagnosi delle rispettive forme morbose, in confronto degli itteri emolitici, delle gastropatie non neoplastiche e delle anemie non essenziali o perniciose.

B) *Resistenza globulare e poteri di inibizione del plasma contro la saponina.*

Da indagini di controllo assai numerose e di cui ho cercato di dare un saggio nei primi quattro termini della mia prima tabella, risulta, secondo quanto era già stato affermato da altri (Port, Sandaya, Roth ecc.), che la resistenza globulare verso la saponina gode di una certa stabilità nei vari individui di una medesima specie, e che quindi, anche per l'uomo, le oscillazioni riscontrabili fra persona e persona sono assai piccole. Tali oscillazioni non sono comunque di grado così poco elevato, che esse non possano venire avvertite, qualora si riesca a rendere ancor più sensibile e delicato il metodo di ricerca, se si aumenti cioè il numero delle soluzioni saponiniche usate e si diminuisca la differenza nel grado di rispettiva concentrazione. Dato il dispositivo delle presenti ricerche, risulterebbe infatti, che le concentrazioni a cui corrispondono la resistenza massima e la resistenza minima di cmc. 0,1 di sospensione globulare allestita nel modo suddetto, oscillano rispettivamente fra gr. 0,00075 e 0,000175 di saponina. Queste cifre non si discostano di molto da quelle ottenute da altri. Tenuto conto di ciò, conviene rilevare subito, secondo quanto stanno a provare i dati delle tabelle, che quella stabilità nel grado di resistenza globulare verso la saponina che è posseduta dal sangue di persona normale, si conserva anche per la maggior parte dei casi di sangue di individuo malato. Non ho mai osservato — ricorrendo alla pratica delle sospensioni isotoniche ed isovolumetriche — un aumento di resistenza, quale in rare circostanze morbose fu rilevato da altri ricercatori, ma debbo pur dire che a me è mancata la opportunità di estendere le mie indagini sui casi un pò rari (poliglobulie), nei quali tale aumento venne registrato.

TABELLA 2.—*Malattie epatiche, renali, del ricambio e delle secrezioni endocrine*

Num. d'ordine	DIAGNOSI CLINICA	DATI EMATOLOGICI			RESISTENZE GLOBULARI							Poteri antiemolitici			OSSERVAZIONI
					Clorosodiche			Saponine		Emolisine		Indice antiosm.	Indice antisap.	Indice antiemolisin	
		Hb.	Globuli rossi	Valor glob.	Rs	RD	RN	Rs	RN	Rs	RN				
23	Cirrosi epatica	33	2.650.000	0.68	0.24	0.34	0.48	0.125	0.050	1:90	1: 25	1	4	3	
24	Cirrosi epatica	48	4.300.000	0.55	0.28	0.34	0.46	0.150	0.050	1:80	1:100	1	5	—	
25	Cirrosi epatica	50	3.750.000	0.66	0.26	0.36	0.46	0.125	0.050	1:75	1:100	1	4	—	
26	Ittero cronico I es.	60	3.500.000	0.85	0.18	0.30	0.36	0.125	0.075	1:100	1:125	1	10	4	Cancro della testo del Pancr.
—	» » II »	35	2.500.000	0.70	0.20	0.32	0.36	0.075	0.050	1:125	1:150	1	8	—	
27	Ittero catarrale	75	4.750.000	0.79	0.18	0.32	0.42	0.125	0.100	1:80	1:90	1	9	4	In remissione
28	Ittero catarrale	75	4.500.000	0.83	0.16	0.32	0.46	0.150	0.100	1:90	1:100	1	12	3	
29	Ittero catarrale	65	4.250.000	0.76	0.20	0.28	0.40	0.100	0.050	1:90	1:100	1	14	2	
30	Ittero catarrale	90	4.800.000	0.92	0.16	0.32	0.46	0.175	0.075	1:75	1:90	1	13	3	
31	Ittero emolitico	60	3.200.000	0.94	0.26	0.38	0.48	0.125	0.075			1	4		
32	Ittero emolitico	65	3.750.000	0.86	0.24	0.34	0.48	0.100	0.050	1:85	1:100	1	5	5	In pneumonico
33	Nefr. int. cron.	50	3.200.000	0.77	0.30	0.42	0.50	0.125	0.075	1:75	1:90	1/2	9	—	
34	Nefr. p. ac. grave	65	4.000.000	0.81	0.20	0.32	0.48	0.150	0.075	1:50	1:75	1	6	5	
35	Nefr. p. ac.	22	2.100.000	0.58	0.28	0.34	0.38	0.100	0.075	1:70	1:100	1/2	7	—	
36	Diabete zucch. legg.	70	4.200.000	0.82	0.30	0.42	0.50	0.150	0.075	1:50	1:100	1	6	—	
37	Diabete zucch. gr.	60	3.650.000	0.84	0.30	0.38	0.46	0.125	0.050	1:100	1:125	1/2	8	—	
38	Saturnismo cron.	25	2.000.000	0.62	0.26	0.34	0.48	0.100	0.050	1:75	1:125	1	6	—	
39	Saturnismo-Nefr.	45	2.800.000	0.81	0.28	0.36	0.48	0.125	0.075	1:80	1:100	1	7	—	
40	Morbo di Basedow	65	4.500.000	0.72	0.26	0.34	0.46	0.175	0.125	1:90	1:125	1	5	4	
41	Morbo di Basedow	60	4.850.000	0.61	0.28	0.36	0.44	0.150	0.075	1:75	1:90	1	4	3	
42	Morbo di Basedow	30	2.250.000	0.66	0.26	0.32	0.44	0.125	0.050	1:125	1:140	1	6	—	Cach. grave
43	Cach. tireopriva	70	5.500.000	0.63	0.30	0.38	0.50	0.050	0.050	1:70	1:100	1	4	—	

Nelle cinque forme di ittero epatico che ho potuto osservare non mi è riuscito mai di rilevare quella diminuzione di resistenza che poterono invece stabilire May e Neil in casi consimili. Da questo punto di vista le mie indagini coincidono con quelle di Port e di Sandaya, che trovarono, come dissi, nell'ittero epatogeno, una resistenza saponinica normale. Appena in un secondo esame, eseguito in un caso di ittero da ostruzione per carcinoma della testa del pancreas (N. 26) dopo sette mesi di melanodermia itterica ed allorchè il paziente era profondamente cachettico, ho potuto rilevare una diminuzione in qualche modo sensibile della resistenza saponinica. Negli altri casi di colemia ho notato invece, tanto pei globuli rossi lavati, quanto pel sangue *in toto,* un certo ritardo nella comparsa dell'emolisi, un prolungarsi cioè, oltre la media abituale, di quel periodo di tempo, che ordinariamente impiega a compiersi la dissoluzione di un' uguale quantità di globuli rossi normali e in contatto con la medesima dose di saponina.

In linea generale ho riscontrato invece un' ipersensibilità globulare verso la saponina, in tutti quei casi in cui esistevano ipocitemia ed ipocromoemia.

Tale ipersensibilità risultò essere però, più apparente che non reale ed in effetto — qualora venisse indagata col metodo di isotonia e di isovolumetria globulare — perdurò manifesta in soli pochissimi casi. Ho creduto di dover distinguere così un'ipersensibilità reale da un' ipersensibilità apparente, a seconda che i fenomeni rispettivi palesati dalle ricerche fatte con i comuni metodi, persistessero o meno, nel corso di una indagine praticata col sistema isotonico ed isovolumetrico.

Un'ipersensibilità reale non mi fu dato di rilevare che in un paio di casi di carcinoma gastrico e precisamente in quelli in cui l' impoverimento organico e sanguigno erano stati più profondi, in un paziente di tifo gravissimo e nei tre di anemia perniciosa che ho

potuto studiare. In queste ultime forme il sangue ha dimostrato anzi di possedere il massimo grado di ipersensibilità globulare verso la saponina ch' io abbia visto esistere nei miei casi.

Un' ipersensibilità apparente, legata cioè più al fatto dell' ipocitemia che non ad una vera e propria maggiore affinità globulare pel glicoside, potei constatare invece in uno dei due casi, rispettivamente, di saturnismo e di diabete avuti in esame, in uno di anemia semplice da ripetute emorragie intestinali e nelle due osservazioni di cirrosi. Per queste ultime, in verità, come pure per il caso di cloroanemia, dovrebbe dirsi più esattamente che la resistenza tocca quasi i limiti minimi compatibili anche colla media fisiologica. Le oscillazioni reali della resistenza saponinica riguardano, per lo più, così la resistenza massima come la minima; quelle apparenti sembrano interessare più da vicino la resistenza minima. Le indagini attuali, per ciò che riguarda i risultati ultimi accennati, confermano quindi quelle antecedenti di Neil e di Sandaya.

L' inibizione di cui si è dimostrato capace il plasma, ha raggiunto gradi differenti, per quanto variabili entro certi limiti non molto estesi. Le medie dedotte dagli esami di controllo (cfr. i quattro primi termini della serie) mi hanno provato, che l' indice antiemolitico del plasma verso la saponina, dati i dispositivi delle presenti ricerche, si aggira intorno a 4-5. Comunque non ho creduto di dover attribuire importanza di anomalia vera e propria, se non ai valori superiori od inferiori rispettivamente agli indici: 3-6. Dal confronto dei dati relativi alla resistenza ed al potere antiemolitico verso la saponina, con quelli riguardanti il quantitativo di eritrociti nell' unità di volume, contenuti nel sangue di varia origine da me esaminato, risulta, quale dato d' indole generale, che, il valore dell' indice antiemolitico del plasma verso la saponina si eleva leggermente ogni qualvolta siano presenti una deficenza di globuli rossi ed un' ipersensibilità eritrocitaria ver-

so la saponina. Ne viene di conseguenza, che, mentre un indice del valore di 3-4, a crasi sanguigna normale, collima coi termini fisiologici o di poco ne va al di sotto, lo stesso indice, nel caso di emazie sensibilmente minorate nella loro resistenza, conferisce al rispettivo plasma un carattere di speciale inferiorità antiemolitica.

Venendo ora, più particolarmente, alle oscillazioni del potere antiemolitico nelle varie forme morbose studiate, merita rilevare che un aumento di questa proprietà verso la saponina dimostrò di possedere il plasma nei tre casi di tifo, in due osservazioni di nefrite parenchimatosa cronica, nel paziente di tabe, in quello di saturnismo complicato con nefrite ed in entrambe le forme di diabete.

Un aumento ancor più manifesto della stessa capacità antiemolitica del plasma fu da me costantemente rilevato nei cinque casi di ittero da ostruzione e mancò invece nei due d' ittero emolitico. Non mi fu dato di osservare una diminuzione dello stesso potere antisaponinico che nei casi gravi di anemia perniciosa. I dati da me raccolti confermano quelli di Herz e Landsteiner, a riguardo d'una capacità d'inibizione superiore alla media normale negli individui affetti da colemia epatica. La costanza di questo dato, di fronte alla sua ordinaria assenza in casi di ittero emolitico, potrebbe — a mio modesto avviso — fornire ancor un altro elemento diagnostico differenziale tra le due forme di colemia, migliore e forse più sicuro che non quello proposto da May relativamente al contegno della resistenza saponinica in analoghe circostanze, resistenza, che, come dissi, dovrebbe essere diminuita in casi di colemia epatica e normale in quelli di origine emolitica. Del pari la cresciuta sensibilità globulare ed il deficiente potere di difesa del plasma verso la saponina, i quali si riscontrano nei casi di anemia perniciosa e mancano in quei tipi di ipoemia che non rivestono caratteri del morbo di Biermer, potrebbero

offrire un prezioso criterio diagnostico differenziale tra le une e le altre forme morbose, qualora ulteriori studi eseguiti sulla scorta di un più vasto numero di casi ne dimostrasse la costanza.

C) *Resistenza globulare e poteri di difesa del plasma di fronte ad un immunsiero.*

L'immunsiero da me preparato possedeva un titolo medio dell'1:75-1:100 valutato col criterio dell'emolisi totale (+ + +). Di fronte a tale siero gli eritrociti d' individui normali (si confrontino i quattro primi termini della serie) dimostrarono di opporre una resistenza misurata rispettivamente da diluizioni, per la resistenza massima, dell'1:50-1:75 e, per la resistenza minima, dell' 1:100-1:125. Del resto il valore reale del potere emolizzante del siero immune ch' io adoperavo, variava, più o meno, di volta in volta, in rapporto al grado di capacità alessica posseduta dal complemento usato nei vari esami. Ed è appunto per ovviare in qualche modo a tale inconveniente, che, come ricordai più in alto, le mie indagini erano eseguite a gruppi comprendenti più esemplari di sangue, dei quali costantemente uno apparteneva ad un individuo normale.

Tabella 3. — *Tumori (carcinomi) ed emopatie*

Num. d'ordine	DIAGNOSI CLINICA	DATI EMATOLOGICI			RESISTENZE GLOBULARI							Poteri antiemolitici			OSSERVAZIONI
					Clorosodiche			Saponina		Emolisina		Indice antiosm.	Indice antisap.	Indice antiemol.	
		Hb.	Globuli rossi	Valor glob.	Rs	RD	RN	Rs	RN	Rs	RN				
44	Cancro del retto	32	2.750.000	0.54	0.20	0.32	0.46	0.125	0.075	1:75	1:100	1	6	--	Metast. mult.
45	Cancro dell'utero	40	3.020.000	0.66	0.20	0.32	0.44	0.150	0.100	1:75	1:125	1	4	--	
46	Carcinoma gastr.	25	3.120.000	0.41	0.28	0.38	0.50	0.150	0.050	1:60	1:90	1	5	—	
47	Carcinoma gastr.	28	2.500.000	0.58	0.22	0.30	0.46	0.125	0.075	1:90	1:100	1	6	—	Iniz. caches.
48	Carcinoma gastr.	30	2.150.000	0.75	0.20	0,28	0.44	0.135	0.050	1:75	1:100	1	6	5	» »
49	Carcinoma gastr.	35	3.000.000	0.58	0.22	0.30	0.46	0.075	0.050	1:90	1:125	1	5	--	» »
50	Carcinoma gastr.	20	1.500.000	0.66	0.16	0.22	0.44	0.100	0.012	1:80	1:140	1/2	6	—	Cach. grave
51	Carcinoma gastr.	18	1.750.000	0.51	0.20	0.28	0.44	0.050	0.025	1:125	1:150	1/2	6	—	Cach. prof.
52	Carcinoma gastr.	22	2.000.000	0.56	0.18	0.26	0.42	0.075	0.012	1:100	1:125	1	7	—	Cach. prof.
53	Anemia da rip. emor.	35	2.225.000	0.70	0.26	0.34	0.44	0.100	0.050	1:75	1:125	1/2	6	—	
54	Cloroanemia	25	3.350.000	0.36	0.26	0.38	0.52	0.100	0.050	1:50	1:125	1	8	—	
55	Anemia grave	30	2.700.000	0.55	0.32	0.40	0.50	0.075	0.025	1:100	1:150	1/2	6	—	Nat. imbrec.
56	Anchilostomanemia	40	3.850.000	0.51	0.24	0.34	0.48	0.150	0.075	1:75	1:90	1	4	—	
57	Anchilostomanemia	20	1.100.000	0.90	0.24	0.36	0.48	0.100	0.075	1:80	1:150	1/2	7	—	
58	Anemia perniciosa	14	900.000	0.98	0.36	0.48	0.54	0.025	0.012	1:125	1:200	—	3	—	Macrobl. scarsi
59	Anemia perniciosa	20	650.000	1.66	0.26	0.40	0.50	0.012	0.005	1:150	1:175	—	4	—	» non abb.
60	Anemia perniciosa	30	1.000.000	1.20	0.16	0.40	0.52	0.025	0.012	1:100	1:200	1/2	3	—	» assai abb.
61	Leucemia mieloide	40	1.800.000	1.00	0.30	0.38	0.54	0.075	0.050	1:90	1:100	1	5	?	Leuc. 600.000
62	Leucem. mielo-linf.	80	3.250.000	1.14	0.24	0.38	0.50	0.100	0.075	1:50	1:110	1	6	4	Leuc. 135.000

Anche verso un immunsiero, la resistenza globulare, così nell' uomo normale come in quello malato, ha mantenuto una certa stabilità, pari press'a poco a quella già notata da Rous. Tale fatto si rese molto più sensibile, allorchè per le ricerche mi attenni al metodo isotonico ed isovolumetrico. Un aumento reale di entrambe le resistenze, massima e minima, ho potuto constatare in soli quattro casi, e cioè in una forma di poliorromenite, in un tifo molto grave, in un caso di cachessia per carcinoma gastrico ed in uno di nefrite parenchimatosa subacuta. In queste tre ultime osservazioni esisteva un considerevole grado di ipoglobulia, circostanza questa che riscontrò anche Rous in quelle tre fra le sue 68 osservazioni, nelle quali potè accertare presenza di un'iposensibilità globulare verso i sieri immuni. Un leggero aumento della resistenza massima figurò nel mio caso di cloroanemia ed in uno dei due casi di diabete zuccherino. Una diminuzione manifesta della resistenza massima mi occorse di constatare anzi con una certa frequenza. Ed in vista appunto di tale circostanza ho creduto di non dover tener conto se non dei gradi d'iposensibilità globulare, che fossero più evidenti. Con questa restrizione, i casi nei quali si rese accertabile una vera diminuzione di resistenza, si riducono ad uno di piletromboflebite, ad uno di leucemia mieloide, ad una forma di anemia secondaria molto grave, ad uno dei due casi di anchilostoma, ad una profonda cachessia basedowica, a due casi di carcinoma dello stomaco. In tutti questi malati esisteva un'ipoemia più o meno intensa e l'ipersensibilità globulare verso le emolisine si manteneva di modico grado, interessando, o entrambe le resistenze, oppure di preferenza la minima. Ma il grado massimo di ipersensibilità eritrocitaria comparve nei tre casi di anemia perniciosa che ho potuto studiare: in essi le resistenze, anche saggiate col metodo delle sospensioni isotoniche ed isovolumetriche, scesero a gradi minimi. A titolo di considerazione generale, merita sia osservato che,

se una deficiente resistenza emolisinica si è accompagnata di solito con ipoglobulia o con ipocromoemia, dimostrandosi anzi — entro certi limiti — proporzionata al grado d' ipoemia, ciò non è valso però ad escludere che in pochi casi, in cui sussisteva un' iposensibilità reale, questa coesistesse con un' ipocitemia anche molto manifesta.

Ciò significa che lo stato di maggiore o minore resistenza del singolo eritrocita non vuole essere considerato, nello stretto senso della parola, come una funzione diretta e proporzionale del numero con cui gli eritrociti figurano nella massa sanguigna.

I risultati suesposti corrispondono nell' insieme ai reperti di Rous. Ponendo questi a lato di quelli e cercando di dedurne una conclusione complessiva, può dirsi, in generale, che un parallelismo vero fra il grado di sensibilità globulare ed il numero dei globuli rossi non sussiste che pel caso delle anemie perniciose. Infatti soltanto in queste ultime forme di discrasia sanguigna, a differenza che nelle altre, l' ipersensibilità estrema verso gli immunsieri coincide con un depauperamento profondo della massa globulare.

Tenuto conto dello scopo a cui mirano le presenti ricerche, mi sono limitato, lungo il corso di esse, a studiare il potere antiemolitico del plasma di fronte agli immunsieri per rispetto al sistema anticorpo + alessina complessivamente considerato, senza indagare partitamente la capacità antialessica e quella antiambocettorica dello stesso plasma.

Le proprietà antiemolisiniche sono risultate durante queste indagini, variabilissime, così nell'individuo normale, come in quello malato. Mentre infatti in certi casi, ad inibire totalmente l'emolisi erano sufficienti tre decimi di plasma, in altri, cinque o sei decimi dello stesso plasma rimanevano senza alcun effetto, od appena davano un' inibizione parziale (+ +). Per ciò ogni asserto in merito a siffatto genere di difesa plasmatica vuole essere pronunciato con la massima pru-

denza. Non ho mai osservato un aumento reale od anche apparente di questa capacità; una diminuzione, o più esattamente, un potere negativo fu da me riscontrato specialmente in casi di idremia, di nefropatie, di cirrosi e di piletromboflebite, negli stati cachettici da carcinoma, da struma esottalmico e sovratutto nelle profonde anemie, fossero queste perniciose o meno.

Il deficiente potere antiemolisinico costituì insomma l'appannaggio delle più comuni e gravi discrasie, qualunque avessero a risultarne la natura e l'origine, e senza alcuna tendenza a specificità.

Ho tenuto parola insino ad ora dei risultati dedotti dalle ricerche istituite con ciascuno dei mezzi di indagine da me esperiti. Con ciò il compito del presente lavoro non è ancora esaurito, inquantochè esso mira sovratutto ad investigare, quali sieno i rapporti che corrono fra le varie resistenze globulari e i diversi poteri di difesa del plasma ed a stabilire, se da una ricerca comparativa sul tipo di quella da me tentata, si possa trarre qualche vantaggio a beneficio della classificazione e della diagnostica delle diverse malattie ed in particolare di quelle che hanno per substrato anatomico una discrasia sanguigna, o che si accompagnano abitualmente con una grave alterazione del sangue.

Dal confronto complessivo dei dati riferiti nelle sovraesposte tabelle e dalle considerazioni parziali ora formulate, risultano conclusioni generali non prive, mi pare, di qualche interesse. Emerge chiaramente anzitutto un'ulteriore prova al fatto menzionato da più di un ricercatore, dell' insussistenza, cioè, di un rapporto diretto e di un parallelismo nel contegno dei vari tipi di resistenza globulare. Talora anzi sembra confermato perfino quell'antagonismo fra resistenza diosmotica e resistenza saponinica, che da taluni è stato di recente ammesso. Si confrontino, a questo riguardo, alcuni dei miei casi di cancro e quello di ittero epatico cronico in secondo esame. A proposito di quest' ultima circostanza, debbo accennare che essa si riferisce ad

evenienze, le quali, se sono del massimo valore, appunto perchè dimostrano l' indipendenza assoluta dei vari tipi di emolisi e di sensibilità globulare, non bastano però a provare, da sole, un fatto che rimane smentito

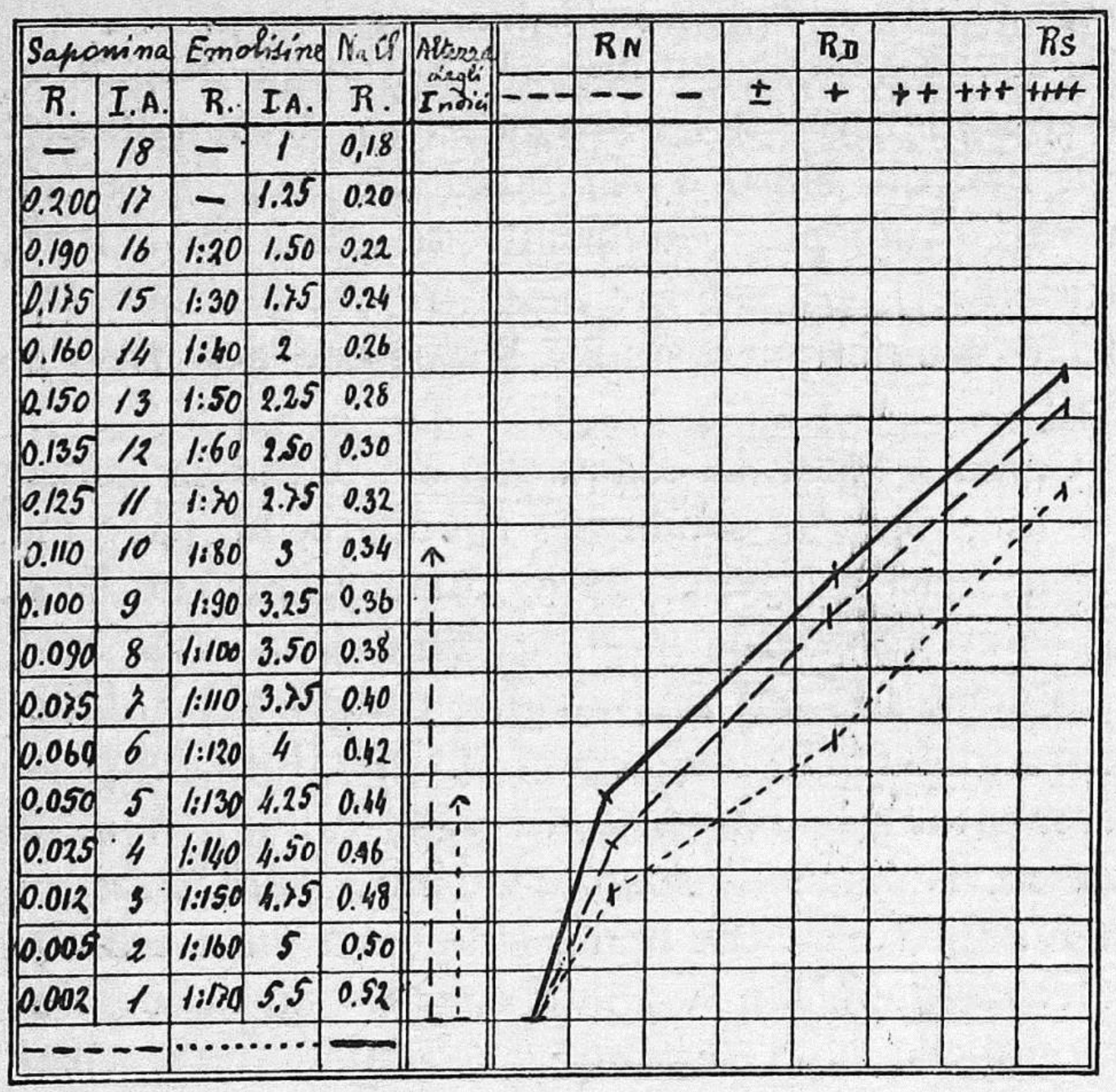


Fig. 1ª - Curva delle résistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma di un individuo a crasi sanguigna normale.

poi da molte altre prove. Invero, anche per ciò che riguarda i rapporti fra resistenza saponinica e clorosodica, nella stessa serie delle mie osservazioni sussistono esempi di perfetta concordanza: p. es. nei casi di anemia grave e particolarmente in quelli a tipo pernicioso. Fatti analoghi a quelli dianzi veduti, si avverano, del pari, per la resistenza emolisinica, paragonata con quella clorosodica: entrambi i due tipi di sensibilità globulare conservano un' autonomia manifesta, la quale, ad ogni modo, non è così elevata come quella che

intercede fra resistenza saponinica e clorosodica da un lato, saponinica ed emolisinica dall'altro.

Il maggior grado d' indipendenza vuole però essere riconosciuto ai poteri di inibizione posseduti dal plasma: difficilmente il grado rispettivo di essi raggiunge valori, non che pari, ma anche solo di poco diversi. Il che è tanto più importante, in quanto un eventuale parallelismo nel contegno rispettivo, una coincidenza nell' un senso o nell'altro dei singoli valori riscontrati (aumento o diminuzione generale dei poteri antiemolitici) possono far supporre che esistano, nel rispettivo sangue, circostanze biologiche del tutto eccezionali.

Come a seconda constatazione d' indole generale, cui le mie ricerche sembrano condurre, mi pare meriti sia accennato al fatto, che le varie forme morbose, le quali comportano una modificazione della crasi sanguigna, dimostrano, ad un'indagine comparativa delle resistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma, un contegno sensibilmente diverso, le une per rispetto alle altre. E poichè le singole varianti sono assai più estese e multiformi che non quelle della pura e semplice resistenza globulare saggiata col metodo delle soluzioni ipotoniche clorosodiche, è da ammettere, che, da indagini comparative, praticate su più larga scala, con materiale più abbondante di quello che non sia stato a mia disposizione per le presenti ricerche e con altri mezzi ancora, oltre a quelli da me usati (batteriolisine, soluzioni di sublimato per il contegno della lecitina, soluzioni glicocoliche o taurocoliche, soluzioni zuccherine), si possa forse addivenire al conseguimento di nuovi e più precisi criteri diagnostici delle varie emopatie.

Qualche dato mi sembra però deducibile, fin d'ora, anche dalle attuali mie valutazioni. Risulta infatti — come era già noto in parte — che, per le forme iniziali o leggere di discrasie sanguigne, il coefficiente biologico che più sollecitamente e sensibilmente si al-

tera è dato dalla resistenza fisico-diosmotica. E poichè, come dissi, tale resistenza è l' espressione dello stato fisico, o meglio chimico-fisico del globulo rosso e del plasma ed in particolare del modo e del grado con cui l' emoglobina adsorbita contrae vincoli e rapporti con gli altri colloidi globulari, ne viene che le forme più leggere di emopatia riconoscono, quale substrato biologico, esclusivamente una modificazione biofisica dei rapporti reciproci esistenti fra colloidi serici e globulari e più spesso fra gli uni e gli altri soltanto di questi ultimi. La compage chimica della molecola non si altera sensibilmente, nè per qualità nè per quantità: si tratta, in altre parole, di un perturbamento, più di rapporto, che non di natura o di sostanza.

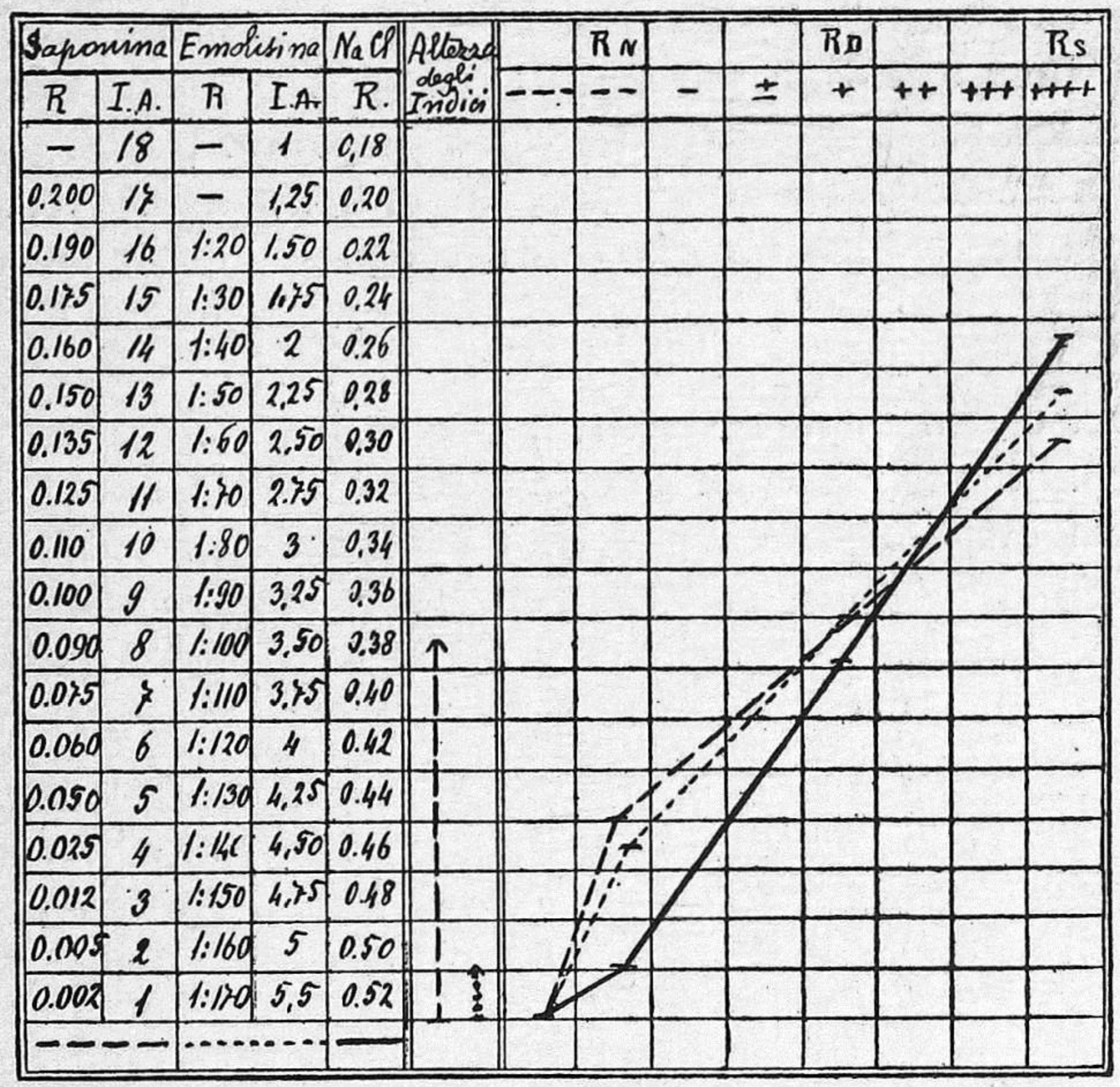


Fig. 2ª - Curva delle resistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma in una paziente affetta da cloroanemia.

Rientrano in questo primo gruppo di emopatie,

quelle, a carico dei globuli e del plasma delle quali, non si rilevano modificazioni, rispettivamente è di sensibilità, nè di difesa verso le sostanze lipo-proteolitiche, verso quei corpi, cioè, che intaccano e distruggono i colloidi serici e globulari. Vanno annoverate quindi in esso le leggere anemie, le forme non gravi di malattie del ricambio, certe iniziali discrasie tossico-infettive o neoplastiche. Già nei riguardi di certe forme, o meglio di singoli casi delle emopatie di questo primo gruppo, si nota, non di rado, qualche risentimento nello stato di sensibilità e di difesa verso gli agenti lipo-proteolitici. Tali divergenze dalla media comune, piuttosto che non a vere e proprie eccezioni, corrispondono forse a sintomi di prosime ulteriori modificazioni seriche e globulari, passibili di acquistare in seguito una maggiore importanza. E così si istituiscono altrettante forme di passaggio fra questo primo nucleo di discrasie, che potremmo dire di primo grado o di ordine esclusivamente fisico, ed una seconda serie di emopatie, le quali sono contrassegnate, oltre che da modificazioni della resistenza clorosodica, anche e contemporaneamente da deviazioni in vario senso dell' una o dell' altra resistenza, dell' uno o dell' altro potere antiemolitico. In queste forme discrasiche, non solo l' ordinamento fisico ed i rapporti reciproci delle molecole colloidee si sono pervertiti, ma già questo o quel colloide serico o globulare è uscito dalla norma modificandosi e per quantità e per natura, subendo cioè una diminuzione od un aumento per rispetto a quello con cui deve figurare in condizioni fisiologiche, oppure assumendo affinità biochimiche più o meno strette per le sostanze capaci di aggredirlo e di distruggerlo. La molecola plasmatica o globulare comincia già ad alterarsi nella sua intima compagine chimica, e, poichè vario è il modo con cui si avvera la lesione rispettiva, come pure, poichè è diverso il colloide che può subirla, così questo gruppo di malattie è quello che presenta differenze più spiccate tra le varie forme morbose che

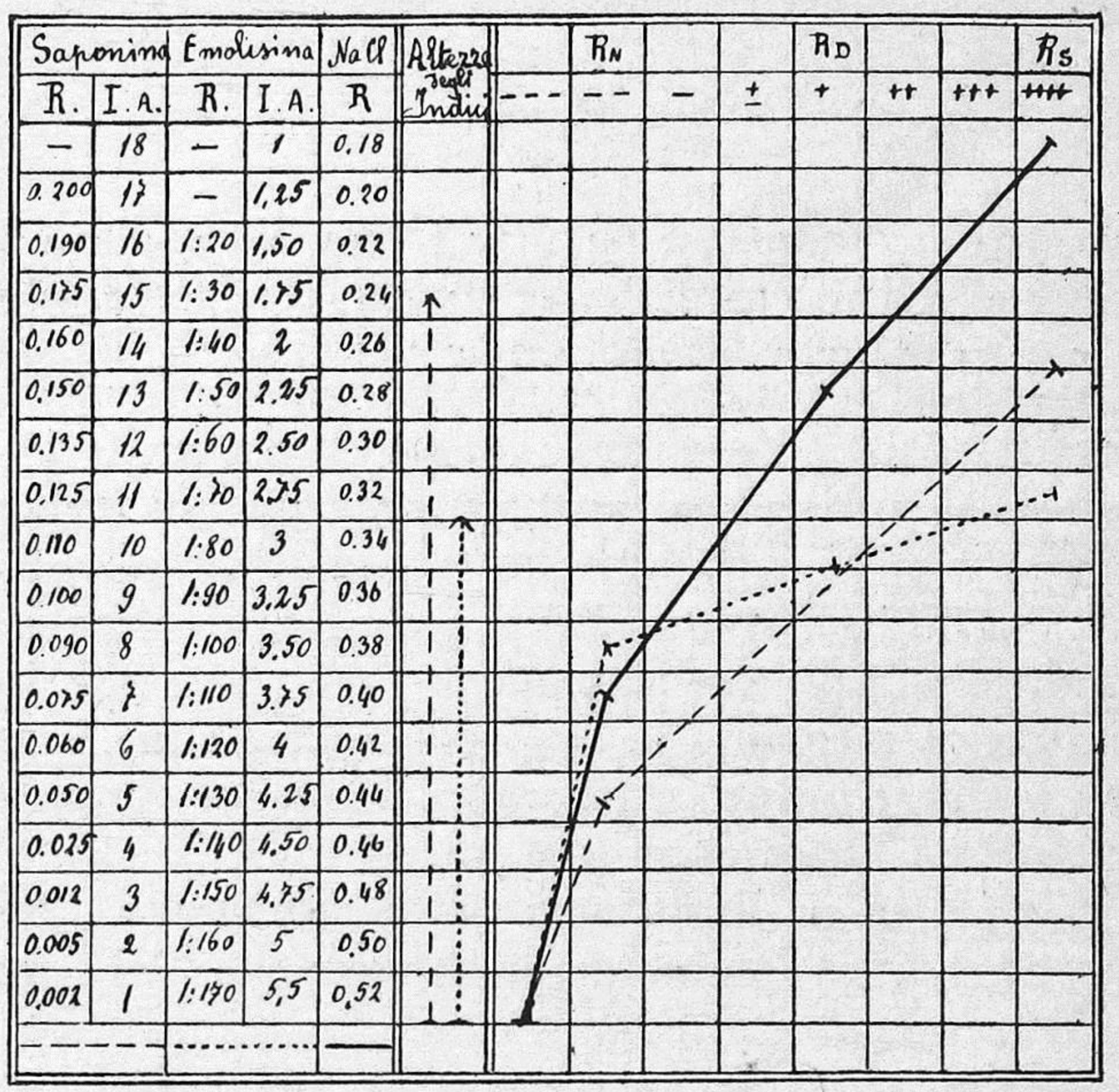
lo compongono. Mi sia lecito di riferire qui alcuni saggi (i più persuasivi) che risultano, in parte dalle indagini eseguite separatamente da vari altri ricercatori, ed in parte dalle mie attuali coordinate con quest' ultime. Gli itteri epatici ed emolitici, i quali oltre che per altri caratteri, si distinguono anche perchè gli uni offrono un' ipersensibilità e gli altri un' iposensibiltà globulare verso le soluzioni clorosodiche (resistenza fisica), si differenzierebbero reciprocamente poi per ulteriori fatti rilevati mediante le altre sostanze da me usate. Valga a chiarire il mio concetto il seguente parallelo: (Cfr. anche i Diagrammi 3° e 4°).

Itteri epatici. Resistenza fisica aumentata. Resistenza saponinica immutata; prolungamento del tempo d'emolisi. Indice antisaponinico molto elevato. Resistenza emolisinica normale od aumentata. Indice antiemolisinico normale, talora aumentato.

Itteri emolitici. Resistenza fisica diminuita. Resistenza saponinica talora diminuita (Roth, Sandaya). Indice antisaponinico normale, assai di rado aumentato. Resistenza emolisinica normale o diminuita. Indice antiemolisinico mai superiore alla norma, talora invece diminuito.

Sembra ormai assicurato e, come feci osservare da principio, anche le mie ricerche paiono confermare, che nel cancro in generale ed in quello dello stomaco in particolare, la resistenza diosmotica è superiore alla norma. Se ne è tratto partito, come vedemmo, per istituirne un elemento coadiuvante alla diagnosi di carcinoma latente. Ora quest' ultima potrebbe forse riuscire avvalorata dal seguente complesso di circostanze, qualora ricerche ulteriori avessero a confermare le mie indagini.

Nel carcinoma, specialmente in quello dello stomaco con grave cachessia, la resistenza diosmotica è cresciuta, quella saponinica è diminuita (salvo casi eccezionali), l' emolisinica è immutata o del pari sensibilmente scemata, i poteri antiemolitici sono normali o piuttosto scarsi. Tali circostanze non si avverano nelle



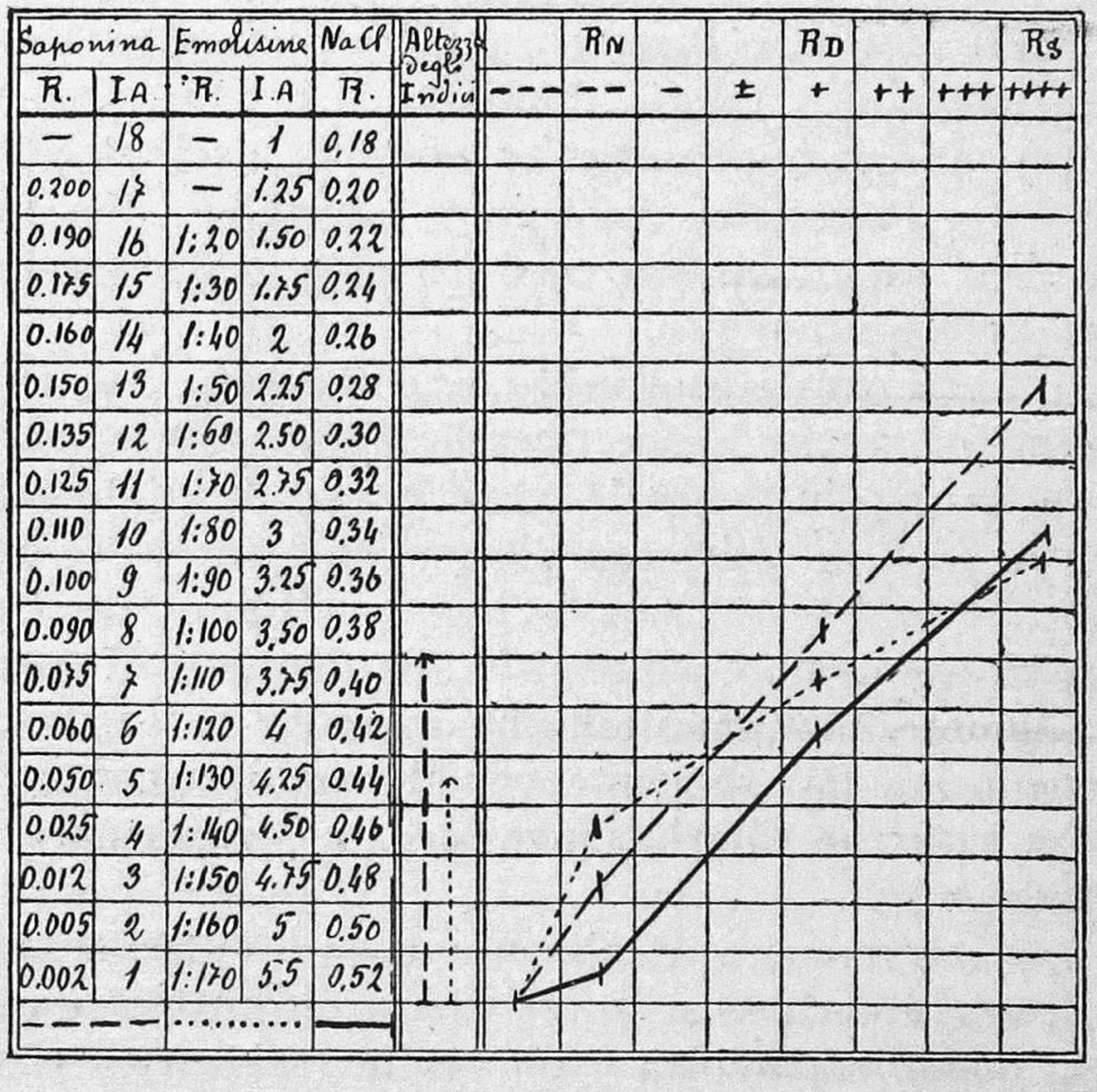


Fig. 3ª e 4ª - Curve delle resistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma in due individui affetti, l' uno da ittro epatogeno da ostruzione (Diagramma 3°), l' altro da ittero emolitico congenito (Diagramma 4°).

gastropatie comuni e nelle altre forme di neoplasie che non sieno le cancerigne, o, se compaiono, non assumono mai gradi così elevati, come nel caso di un epitelioma.

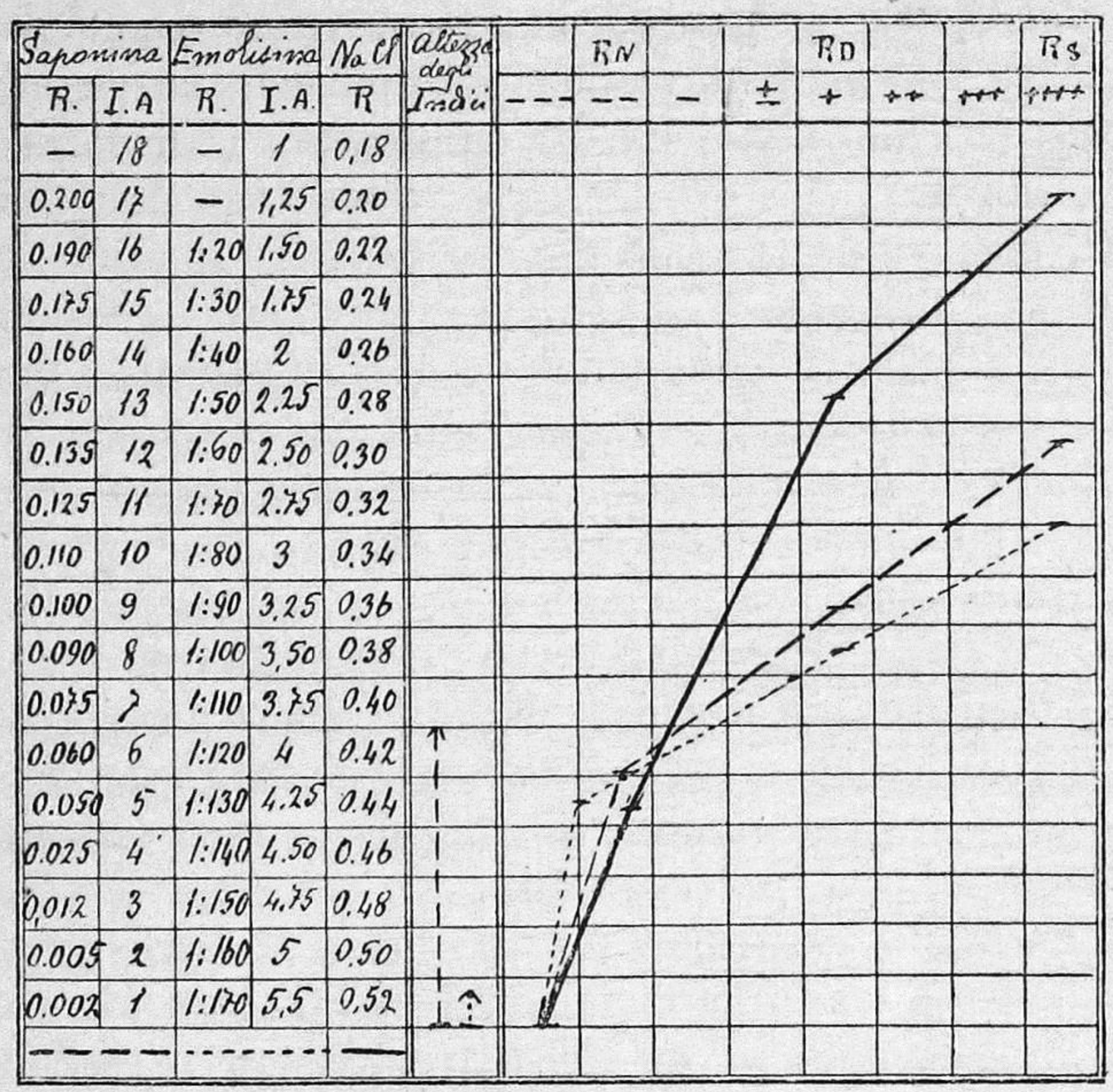


Fig. 5ª - Curva delle resistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma di un individuo affetto da cachessia cancerigna (adenocarcinoma dello stomaco).

Del resto, anche a prescindere da questi esempi così chiari, ciascun tipo di malattia, in cui sia interessato il sangue primariamente od in via secondaria, può dimostrare una fisionomia propria, qualora venga studiato coi varî mezzi d' indagine da me simultaneamente usati o con altri consimili. Per lo meno, si possono svelare tali caratteri, per cui, di volta in volta e caso per caso, diventa possibile risalire ad un' interpretazione biofisica e biochimica dello stato trofico e funzio-

nale del sangue rispettivo (globuli e plasma), molto più esatta ed esauriente di quanto non può essere quella prospettata coi metodi insino ad ora separatamente adoperati. E così, sempre proseguendo sulla scorta delle altrui indagini e delle mie, vediamo, per esempio, che nelle nefropatie in genere, nelle nefriti in ispecie, il sangue, se può presentare una resistenza fisica, ora diminuita, (forme acute) ed ora aumentata (forme croniche), oppone però, alle sostanze lipolitiche una resistenza, che, valutata colle dovute cautele, si dimostra presso a poco normale ed ai sieri immuni, una resistenza (sensibilità verso gli agenti proteolitici) del pari normale e spesso aumentata, mentre possiede un potere antiosmotico per lo più diminuito ed un indice antilipolitico ed antisaponinico ordinariamente elevato.

Condizioni presso a poco pari — salvo uno stato di ipersensibilità globulare verso gli emolitici di ordine fisico — esistono in isvariate malattie del ricambio, per esempio, nel diabete, nel saturnismo, in molte malattie febbrili ed in gran numero di disemie a tipo anemico con ipocitemia ed ipocromoemia.

Le disemie che rientrano in questo secondo gruppo mi pare possano però ancora separarsi da altre emopatie essenziali, il cui substrato biologico, essendo dato da un pervertimento profondo della massa sanguigna in tutti i suoi costituenti, permette di riunirle in una terza serie di forme morbose, che potrebbe dirsi delle emopatie essenzialmente distrofiche. Tale distinzione merita sia fatta, ben inteso, da un punto di vista puramente nosografico, in quanto che le forme di cui il gruppo risulta, spesso non rappresentano che una fase più progredita od anche lo stadio terminale di certe altre che stanno riunite in quello antecedente.

Questo terzo ed ultimo nucleo di malattie dovrebbe risultare di quelle disemie, nelle quali, a carico così delle varie sensibilità globulari come delle differenti capacità inibitrici del plasma, esistono modificazioni profonde, costanti e sovratutto di grado e di signifi-

cato uguali e paralleli, tali insomma da far pensare ad alterazioni essenziali nel bilancio lipoido-proteico del sangue.

Poche forme emodiscrasiche assumono caratteri di così intensa distrofia dei colloidi serici e globulari. Secondo quanto sembra risultare dalle osservazioni isolate di altri studiosi (Sandaya, Vaquez), relative ad un aumento della resistenza diosmotica e saponinica, dei poteri antilipolitici in certe forme di iperglobulie, parrebbe di dover includere in questo terzo gruppo, appunto alcuni tipi di iperglobulia essenziale accompagnati anche da ipercromoemia. Ma la malattia del sangue, la quale, secondo le altrui ricerche e le mie, meriterebbe, più che ogni altra, di far parte di questo terzo gruppo di emopatie, è rappresentata dall' anemia perniciosa propriamente detta, da quel tipo speciale cioè di disemia, che oggidì si è stabilito essere contraddistinta dai ben noti segni patognomonici fondamentali dell' ipocitemia e dell' oligocromoemia gravissime, del valore globulare elevato, della poichilocitosi, dell' anisocitosi, della leucopenia e della linfocitosi relativa ed infine della presenza di elementi megaloblastici (Ehrlich, Naegeli, Türk). In questa forma di anemia infatti, a differenza che in qualsiasi altra disemia anche gravissima, si riscontrano, come vedemmo, una ipersensibilità spiccata verso tutti i fattori di emolisi: fisici, proteolitici e lipolitici; una deficienza, spesso molto manifesta, dei poteri di difesa del plasma verso queste medesime sostanze.

Un decadimento, uno sfacelo biologico di tutti gli elementi della massa sanguigna si sono istituiti dunque nel sangue dell' anemico pernicioso, secondo un indirizzo unico, preciso e parallelo in tutte le sue efficienze e secondo un complesso di circostanze intese a ledere ognuno dei colloidi serici e globulari del sangue in sè stessi considerati e nei loro intimi rapporti reciproci. Vero è che, come ho fatto notare, la Rs saggiata con alcuni mezzi d' indagine (resistenza diosmotica) in certe

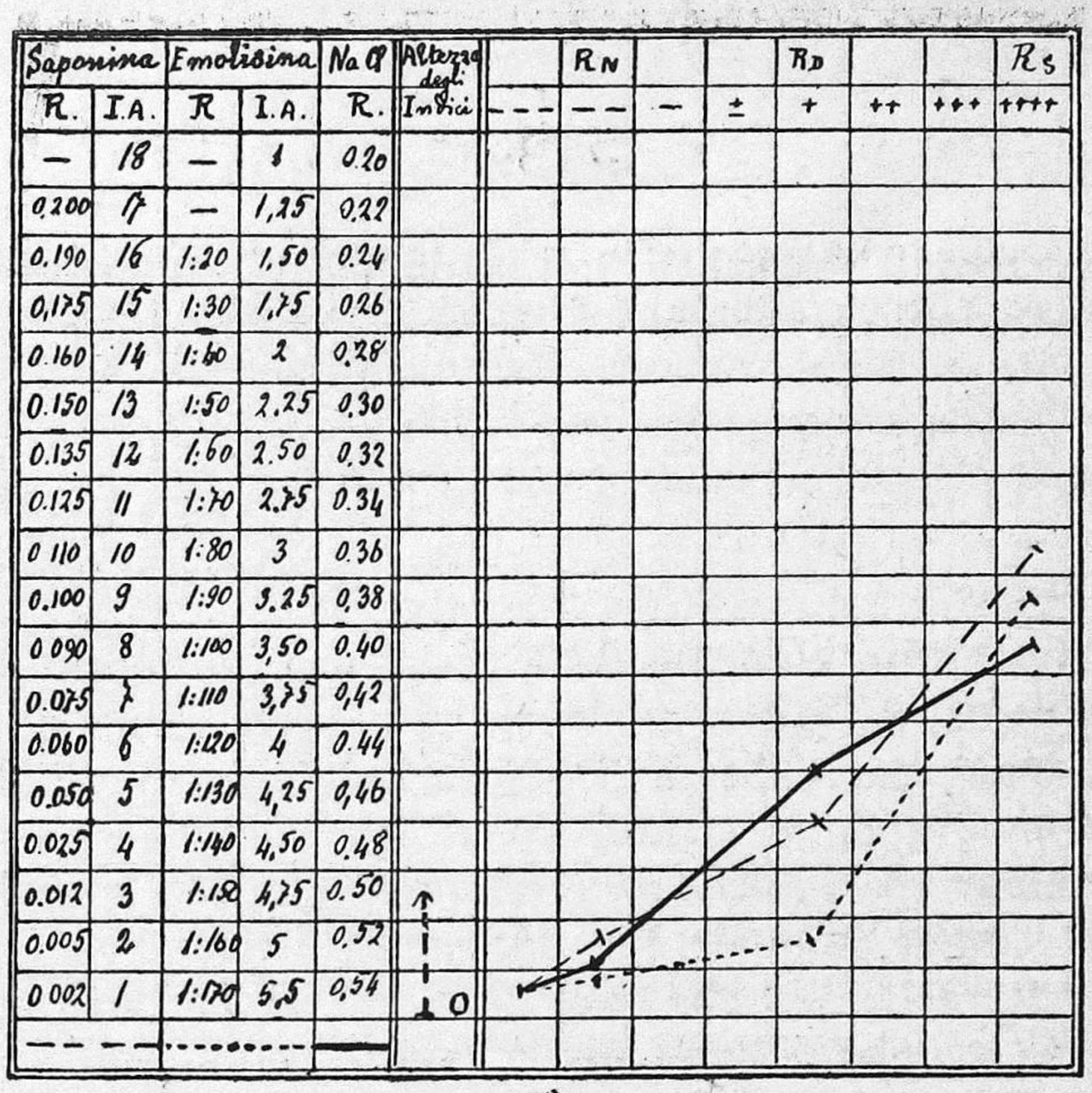


Fig. 6ª e 7ª - Curva delle resistenze globulari e dei poteri antiemolitici del plasma in individui affetti da anemia perniciosa. Il diagramma 6° riguarda un caso di perniciosa con deficienza notevole di megaloblasti; il diagramma 7° una forma di perniciosa in fase megaloblastica assai attiva.

fasi della malattia dimostra di tenere un contegno che può parere paradossale. Ma tali eccezioni, anzichè infirmare la regola, paiono invece confermarla maggiormente, in quanto che, un aumento, anche assai considerevole, della resistenza massima, del pari che gli elementi macrocitarî e macroblastici con cui geneticamente tale aumento sembra connettersi, indicano un temporaneo ritorno del midollo osseo allo stato embrionario, equivalgono ad uno sforzo, spesso infruttuoso, compiuto dal midollo stesso per riparare, in qualche modo, alle gravi condizioni disemiche esistenti e non mutano la fisionomia generale della forma morbosa. E da questo punto di vista anzi, il contegno della resistenza massima clorosodica può costituire un criterio pronostico di non piccola importanza.

Con siffatti criterî, le differenti emopatie rimangono comprese in una classificazione, la quale, oltre che da un punto di vista puramente teorico, mi pare meriti di essere presa in considerazione anche da uno essenzialmente pratico: diagnostico, cioè, e nel contempo pronostico.

BIBLIOGRAFIA

Per ragioni di brevità, mi limiterò a riunire nella presente bibliografia solo le citazioni dei lavori nei quali è più accuratamente raccolta la letteratura dell' argomento, di quei pochi che riguardano le ricerche cliniche fatte con saponina e con sieri immuni e delle più recenti pubblicazioni infine le quali non figurano nei suaccennati lavori. Pel rimanente rimando alle mie tre precedenti pubblicazioni.

Antonelli. Colesterina e resistenza globulare negli stati anemici. *Policlinico,* sezione medica, num. 8, 1914. — Bielonowsky. *Annals de l'Ac. de méd. de Petersbourg,* 1902 (citato da Peyton Rous). — Biffis. Della resistenza negli itteri. *Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche,* Vol. XXXII. — Chkliawitch. *Annals de l'Ac. méd. milit. de Petersbourg,* 1901 (citato da Rons). — Cohnreich.

Klinische Bestimmungen der Erythrozytenresistenz besonders in Dienst der Krebsdiagnose. *Folia haemathologica,* ottobre 1913. (Ricchissima bibliografia sulla Res. cloros. in Clinica). — Heuberger. Ueber die Saponinresistenz in verschiedenen Zuständen. *Deutsches Archiv f. klinische Medizin,* 1912. — Kagan. Ueber die Erythrozytenresistenz in allg. u. die Saponinres. etc. *Folia haematologica,* 1913. (Lett. sull' emolisi da saponina. — Krasny. Ueber Haemolyse u. Resistenz der Erythrozyten. *Ibidem,* 1913. (Lett. generale sulla natura e sulle dottrine dell' emolisi da svariate sostanze). — May. Récherches sur la résistance globulaire des tuberculeux. *Bull. de la Soc. d' études sc. sur la tuberculose,* 1914. — *Idem.* La résistance globulaire à la saponine. *Annales de médecine,* 1914. — Neil. The resistance of the blood corpuscles in health and disease to haemolysis by saponin, whit a comparaison of saponin and hypotonic salt solution haemolysis. *Journal of Path. and Bakt.,* 1910.—Paoloni. La resistenza delle emazie negli stati anemici ed itterici. *Policlinico,* sezione medica, 1913. — Peyton Rous. The resistance to a haemolysin of human erytrocytes in health and disease. *The Journal of exp. medizine,* 1909. — Roccavilla. Le resistenze globulari ed i poteri antiemolitici del plasma nel sangue dell' animale splenectomizzato. *Pathologica,* 1° marzo 1914; *Clinica medica italiana,* 1915 e *Archives de méd. exp. et d'Anat. path.* (in corso di stampa). — *Idem.* Sulla collaborazione attiva dei diversi parenchimi nei processi della emolisi. *Archivio di Fisiologia,* fasc. III, 1913. — *Idem.* Le alterazioni anatomo-istologiche da emolisi di lunga e breve durata nell' animale normale e splenectomizzato. *Rivista veneta di Scienze mediche,* 1915. — Sandaya. Untersuchungen ueber die Erythrozytenresistenz in verschied. Krankheiten. (Res. verso la saponina e le soluzioni cloros.). Inaug. Diss. Gottinga, 1912. — Weihrauch. Resistenzbestimmungen der Erythrozyten bei Tuberkuose. *Deutsche medizinische Wochenschrift,* 1913.